

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАТОГЕННЫХ КАЛЬЦИФИКАТОВ ЗУБНОЙ ПУЛЬПЫ

Киселева Д.В.¹, Шагалов Е.С.^{1,2}, Зайцева М.В.¹, Панкрушина Е.А.¹, Сустанов С.Г.², Спивак Н.³

¹Институт геологии и геохимии УрО РАН, г. Екатеринбург, Kiseleva@igg.uran.ru

²Уральский государственный горный университет, г. Екатеринбург

³Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург

Введение

Дентикли (пульпарные камни, pulp stones) - образования из дентина или дентиноподобной ткани, формирующиеся в результате минерализации коронковой и корневой пульпы. Подобные кальцификаты обнаруживаются при рентгенологических исследованиях ротовой полости и довольно широко распространены среди всех возрастных групп [Berés et al., 2016].

Этиологические факторы патогенного минералообразования в пульпе до сих пор не изучены. Предполагаемые механизмы включают развитие дентиклей вокруг поврежденной ткани пульпы (например, распадающиеся клетки, кровяные тромбы или волокна коллагена); также кристаллы фосфата кальция могут отлагаться внутри минерализующихся клеток [Luukko et al., 2011].

Чаще всего дентикли формируются без развития каких-либо явных симптомов, и только при сдавлении новообразованиями сосудисто-нервного пучка пульпы может начаться воспалительный процесс с выраженными болевыми ощущениями.

Выделяют несколько форм пульпарных камней – свободные (расположенные непосредственно в пульпе), пристеночные (срастающиеся со стенкой зуба) и интерстициальные (возникающие вследствие обрастания свободного или пристеночного дентикля новыми слоями вторичного дентина) [Johnson, Bevelander, 1956]. В зависимости от структуры принято различать истинные или дентиноподобные дентикли (с наличием дентинных канальцев), ложные (бесструктурные локализованные агрегаты кальцифицированного вещества), а также диффузные (обычно встречающиеся вблизи сосудов) [Sayegh, Reed, 1968].

К настоящему моменту в литературе (как российской, так и зарубежной) практически не представлены данные о физико-химических характеристиках дентиклей (составе, структуре и свойствах); известно только, что их минеральная фаза состоит из карбонат-гидроксиапатита [Trowbridge et al., 1996; Berés et al., 2016]. В работе [Berés et al., 2016] предпринята попытка выявления кристаллографической структуры и элементного состава минеральной фазы пульпарных камней методами рентгеноструктурного

анализа и сканирующей электронной микроскопии с ЭДС-приставкой.

Целью нашего исследования является определение физико-химических характеристик пульпарных камней (дентиклей) пациентов Уральского региона.

Материалы и методы

Исследованы 2 образца пульпарных камней (дентиклей), извлеченные у пациентов во время лечения (клиника Уральского государственного медицинского университета).

СЭМ-изображения получены на сканирующем электронном микроскопе JSM-6390LV (JEOL): ускоряющее напряжение 20кВ; образцы напылены углеродом. Элементный состав определен с помощью ЭДС-приставки Oxford.

Микроэлементный состав определен на квадрупольном масс-спектрометре NexION 300S с использованием системы для лазерной абляции NWR 213 (New Wave Research). Операционные параметры лазера: энергия - 3 Дж/см², частота - 10 Гц, диаметр пучка – 50 мкм. Для градуировки использовался стандартный образец прессованного фосфата кальция MAPS-4.

Дебаграммы получены на рентгеновском порошковом дифрактометре УРС-55 (камера РКД, FeK α + β , U=30 кв, I=10 мА) в Уральском государственном горном университете.

Спектры КРС получены на рамановском спектрометре LabRam HR Evolution: спектральный диапазон 300 – 4000 см⁻¹; лазер возбуждения 633 нм; используемый объектив 50х, решетка 600 штр/мм.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены СЭМ-изображения исследованных образцов.

Как видно из рис. 1, дентикли обладают гетерогенной пористой, параллельно-волокнистой, спутанно-волокнистой структурой. В крупных порах и каналах прослеживается внутренняя структура; отмечаются участки с повышенным содержанием органического вещества и существенно минерализованные. Дентиноподобной структуры не отмечено. По результатам ЭДС-анализа минерализация представлена биогенным апатитом переменного состава,

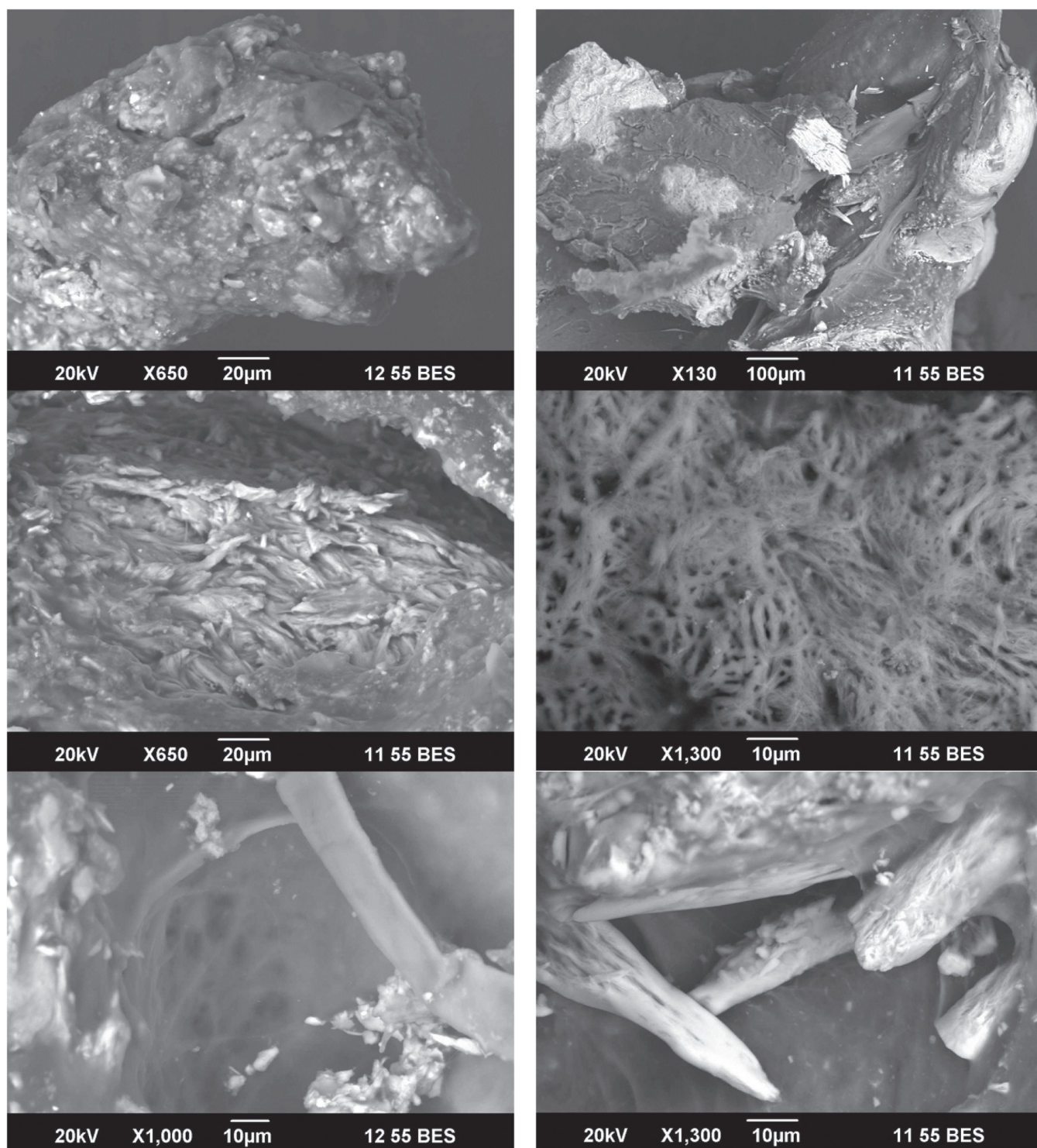


Рис. 1. СЭМ-изображения исследованных образцов дентиклей

пленками хлор-сера-кремнисто-глиноземистого состава. Обнаружены повышенные содержания натрия, магния, калия, алюминия и кремния, в отдельных точках анализа – цинка и стронция. Среди анионов отмечаются повышенные концентрации хлора и серы. Натрий, калий, магний, а также хлор являются важнейшими электролитами в жидких средах организма; сера является важнейшим компонентом крови и нервной ткани, органической матрицы коллагена, а также амелобластов и одонтобластов (клеток, про-

дуцирующих зубную эмаль и дентин) [Burguera, Burguera, 2009].

Некоторые микроэлементы (Cr, Zn, B и др.), так называемые эссенциальные, необходимы организму для его нормального функционирования. Напротив, целый ряд элементов (Al, Sr и др.) не играет определенной роли в жизнедеятельности организма, а отдельные из них (Pb, Cd, Hg и др.) токсичны даже в малых количествах [Reeder et al., 2006]. Данные ЭДС-анализа в целом подтверждаются результатами ЛА-ИСП-

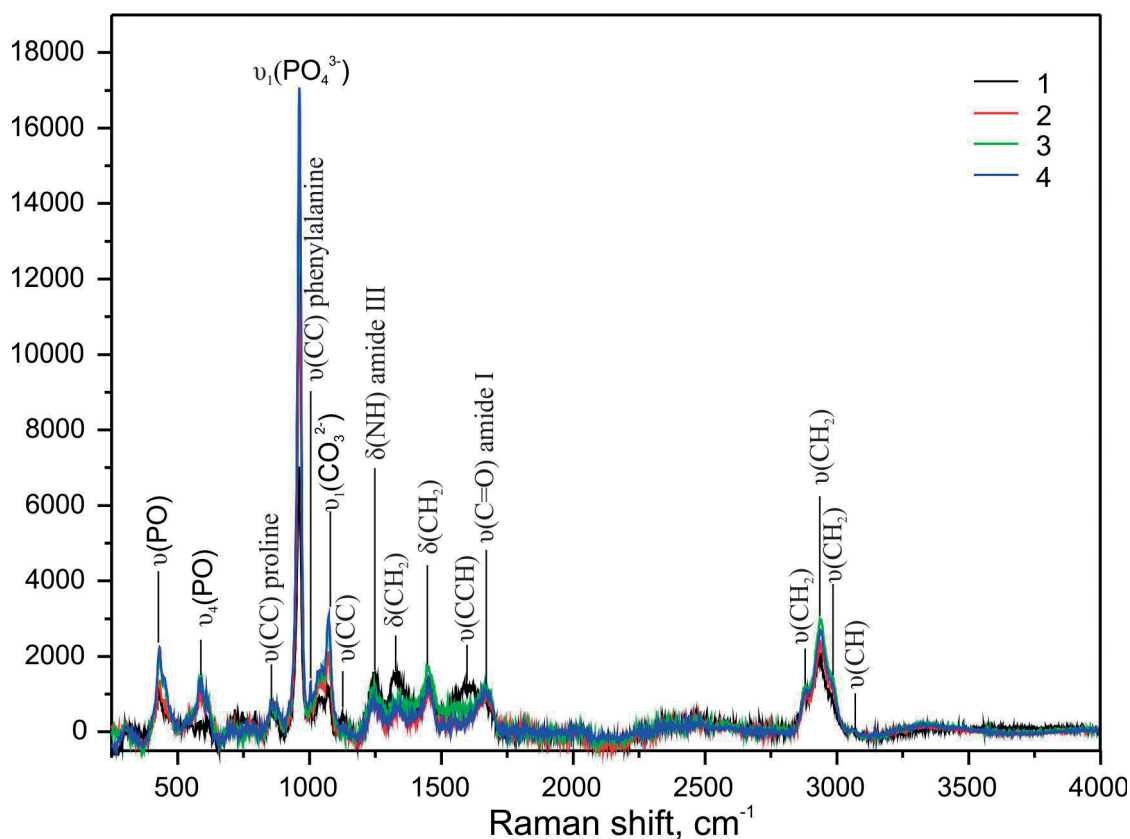


Рис. 2. Спектры КРС исследованного образца дентиня: 1-4 – различные точки анализа на поверхности

МС в исследованных дентинях: содержания цинка составляют 0.1–0.13%, стронция 185–380 ppm, бария 14–23 ppm, свинца 7–14 ppm, бора 4–7 ppm. Повышенное содержание цинка и меди в дентинях было отмечено в работе [Berés et al., 2016]; авторы связали этот факт с возможной повышенной активностью Zn, Cu-содержащего фермента-антиоксиданта супероксиддисмутазы (СОД) при окислительном стрессе, вызванном воспалительными процессами в пульпе, что, в свою очередь, способствует запуску реакции патогенной минерализации. Наличие свинца в составе пульпарных камней также может косвенно свидетельствовать о развитии воспалительного процесса в пульпе, поскольку свинец очень нейротоксичен и может спровоцировать воспаление [Chibowska et al., 2016]; даже самые малые его содержания могут привести к проявлению негативных последствий. В целом, наличие в пульпарных камнях (а, следовательно, и в пульпе) тяжелых элементов (стронций, барий, свинец) может являться отражением неблагоприятной экологической обстановки в условиях мегаполиса или даже всего Уральского промышленного региона.

По результатам рентгенофазового анализа минеральная компонента дентиней соответствует карбонат-гидроксиапатиту. Она слабо структурирована, проявляются только основные пики, которые имеют явное уширение.

Рамановские спектры исследованных образцов характеризуются высоким сплошным фоном, обусловленным, вероятно, люминесценцией органических соединений [Sa et al., 2012]. На рисунке 2 представлены рамановские спектры дентиня (образец №1) за вычетом фона (1–4 – различные точки анализа на поверхности). На спектрах фиксируются линии от колебаний минеральной составляющей – карбонат-гидроксиапатита: симметричного валентного колебания $\nu_1 \text{PO}_4^{3-}$ ($\sim 960 \text{ cm}^{-1}$), деформационных колебаний $\nu_4 \text{PO}_4^{3-}$ (430 и 580 cm^{-1}), а также валентных ν_1 колебаний примесных карбонат-ионов В-типа, замещающих фосфат-ионы в решетке апатита ($1065\text{--}1070 \text{ cm}^{-1}$) (интерпретация полос согласно [Kirchner et al., 1997]). Также явно выражены колебания органической матрицы: колебания углеродных связей в пролине и гидроксипролине, фенилаланине, связей NH и C=O в амиде типов I и III (интерпретация полос согласно [Kirchner et al., 1997]). Все обнаруженные колебания протеиновой матрицы соответствуют фибриллярному белку коллагену, который является основным органическим компонентом зубной эмали и дентина.

Выводы.

В данной работе определены физико-химические характеристики дентиней (пульпарных камней), извлеченных у пациентов Уральского региона. В связи с малыми размерами образцов, для исследования были

использованы высоколокальные методы: СЭМ-ЭДС, ЛА-ИСП-МС, рамановская микроспектроскопия. По данным рентгенофазового анализа и рамановской спектроскопии определен фазовый состав их минеральной компоненты – карбонат-гидроксиапатит. Полученные данные согласуются с литературными. Впервые методом спектроскопии КРС получена информация об органической компоненте дентиклей, она соответствует коллагену.

Элементный анализ методами ЭДС и ЛА-ИСП-МС показал наличие ряда эссенциальных (натрий, магний, калий, хлор, сера, цинк) и токсичных (свинец, барий) элементов в составе пульпарных камней, причем данные по определению микроэлементного состава методом ЛА-ИСП-МС получены впервые. Микропримесный состав дентиклей может свидетельствовать о развитии воспалительных процессов и состояния окислительного стресса в пульпе, приводящих к запуску реакции патогенной минерализации.

Работа выполнена в Центре коллективного пользования «Геоаналитик» в рамках госбюджетной темы № 0393-2016-0025 «Спектроскопия, спектрометрия и физика гео-, космо- и биогенных минералов на основе аналитических методик с высоким пространственным разрешением: оксиды, силикаты, фосфаты, карбонаты».

ЛИТЕРАТУРА

1. Berès F. et al. Comparative Physicochemical Analysis of Pulp Stone and Dentin. Journal of Endodontics, 2016. Vol. 42, Issue 3, P.432 – 438.
2. Burguera J.L., Burguera M. Recent on-line processing procedures for biological samples for determination of trace elements by atomic spectrometric methods. Spectrochimica Acta Part B. 2009. Vol. 64. P. 451–458.
3. Chibowska K., Baranowska-Bosiacka I., Falkowska A., Gutowska I., Goschorska M. & Chlubek D. Effect of Lead (Pb) on Inflammatory Processes in the Brain. International Journal of Molecular Sciences, 2016. 17(12), 2140.
4. Johnson PL, Bevelander G. Histogenesis and histochemistry of pulpal calcification. J Dent Res 1956;35:714–22.
5. Kirchner M.T., Edwards H.G.M., Lucy D., Pollard A.M. Ancient and Modern Specimens of Human Teeth: a Fourier Transform Raman Spectroscopic Study. Journal of Raman Spectroscopy, 1997. Vol. 28, P.171-178.
6. Luukko K., Kettunen P., Fristad I., et al. Structure and functions of the dentin-pulp complex. In: Cohen S, Burns RC, eds. Pathways of the Pulp. 10th ed. St Louis: Mosby; 2011:494–7.
7. Reeder R.J., Schoonen M.A.A., Lanzirotti A. Metal Speciation and Its Role in Bioaccessibility and Bioavailability in Medical Mineralogy and Geochemistry, Eds. Sahai N. and Schoonen M.A.A. RIMG, 2006. Vol. 64: P.59 – 114.
8. Sa Y., Chen D., Liu Y., et al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH values on enamel surface structure and color: An in situ vs. in vitro study. J Dent. 2012;40(SUPPL. 1):e26-e34.
9. Sayegh F.S., Reed A.J. Calcification in the dental pulp. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1968;25:873–82.
10. Trowbridge H.O., Tewart J.C.B., Shapiro I.M. Assessment of indurated, diffusely calcified human dental pulp. In: Proceedings of the International Conference of Dentin/Pulp Complex. Tokyo: Quintessence Publishing; 1996:297.